

**Über die Entwicklung der Skelettmuskulatur
des Ferkels in der Neugeborenenphase
— eine histochemische Studie —**

Frank Koch

1977

Aus dem Institut für Tierpathologie (Lehrstuhl für Allgemeine
Pathologie und Pathologische Anatomie) des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. Joachim von Sandersleben

Arbeit angefertigt unter
Leitung
von
Prof. Dr. Joachim von Sandersleben

Über die Entwicklung der Skelettmuskulatur des Ferkels
in der Neugeborenenphase
- eine histochemische Studie -

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Frank Koch
aus
Trossingen

München 1977

**Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München**

Dekan: Prof. Dr. B. Vellmerhaus

Referent: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Korreferent: Prof. Dr. K. Walser

Tag der Promotion: 25. Februar 1977



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	3
2.1. Anatomisch-physiologische Vorbemerkungen	3
2.2. Fasertypenunterschiede	4
2.2.1. Histochemische Kriterien zur Fasertypen- differenzierung	8
2.2.1.1. Enzyme des Energiestoffwechsels	8
2.2.1.2. Energiesubstrate: Fett - Glycogen	11
2.2.1.3. Enzyme des Kontraktionssystems	12
2.2.1.4. Anwendungsmöglichkeiten der Histochemie zur Fasertypendifferenzierung	13
2.3. Fasertypen beim Schwein	14
2.3.1. Praenatale Muskelfaserentwicklung beim Schwein	15
2.3.2. Postnatale Muskelfaserentwicklung beim Schwein	17
2.4. Anwendungsbereiche der Histochemie des Skelettmuskels	20
3. Eigene Untersuchungen	22
3.1. Material und Methodik	22
3.2. Ergebnisse	24
3.2.1. M. longissimus dorsi am 1. Lebenstag	24
3.2.2. M. longissimus dorsi am 3. Lebenstag	26
3.2.3. M. longissimus dorsi am 6. Lebenstag	27
3.2.4. M. longissimus dorsi am 9. Lebenstag	28
3.2.5. M. longissimus dorsi am 12. Lebenstag	28
3.2.6. Befunde am M. quadriceps femoris	29
4. Diskussion	32
5. Zusammenfassung	37
6. Abbildungen	41
7. Literaturverzeichnis	51

1. Einleitung

Das Schwein in seiner heutigen Zuchtrichtung ist nahezu ausschließlich auf Fleischproduktion ausgerichtet. Ungestörtes Wachstum und eine hohe Fleischqualität sind für die Schweinehaltung wesentliche und wirtschaftlich entscheidende Faktoren. Durch eine Reihe von Muskelerkrankungen, die sich zum Teil bereits in der Neugeborenenphase manifestieren, kann es sowohl im Bezug auf die Entwicklung der Tiere als auch auf die Schlachtkörperqualität zu erheblichen Einbußen kommen. Es erscheint deshalb angebracht, die Myopathien des Schweines sowohl in diagnostischer als auch wissenschaftlicher Hinsicht schwerpunktmäßig zu behandeln. Hierzu besonders geeignet ist eine in der Humanmedizin eingeführte Methode - die Enzymhistochemie. Durch die Darstellung von Enzymaktivitäten am Wirkungsort wird es möglich, die in biochemischer, funktioneller und morphologischer Hinsicht verschiedenartigen Muskelfasern, aus denen der Skelettmuskel als Ganzes zusammengesetzt ist, sicher voneinander abzugrenzen. Umfangreiche Publikationen besonders auf humanmedizinischem Gebiet machen deutlich, daß zahlreiche Myopathien nur oder vorwiegend bestimmte Fasertypen betreffen. Erste Arbeiten am Schwein zeigen, daß mit dieser Methodik auch in der Veterinärmedizin Fortschritte zu erwarten sind. Um nun zu

den Grundlagen für weitere Untersuchungen am pathologisch veränderten Muskel beizutragen, kam mir die Aufgabe zu, die Entwicklung der Ferkelmuskulatur unter besonderer Berücksichtigung enzymhistochemischer Methoden darzustellen.

2. Literatur

2.1. Anatomisch-physiologische Vorbemerkungen

Die Skelettmuskulatur der Säugetiere und des Menschen sowie vieler niedrigerer Tiere besteht aus zahlreichen Einzelfasern, die vielkernige Plasmodien darstellen. Die Einzelfasern sind in ein bindegewebiges Stroma eingebettet und bilden mit diesem und dem Skelett eine funktionelle Einheit. Die einzelne Skelettmuskelzelle repräsentiert einen hochspezialisierten postmitotischen Zelltyp. Hauptmerkmal sind die kontraktile Myofibrillen, die in charakteristischer Weise in Form von längs verlaufenden, gegeneinander verschieblichen Filamenten (Actin-, Myosinfäden u.a.) mit zahlreichen Querbrücken (Myosinhals, Myosinkopf) einen großen Teil der Zelle ausfüllen. Weiteren Raum beansprucht das Erregungssystem, welches aus dem T-System, einer Einstülpung der Zellwand (Sarcolemm) in das Zellinnere, und dem sarcoplasmatischen Reticulum mit seinen terminalen Zysternen besteht. Dieses System ist subsarcolemmal und intermyofibrillär angeordnet. Ebenfalls subsarcolemmal und intermyofibrillär sind die Mitochondrien, Glycogengranula und Fetttröpfchen anzutreffen. Dies alles ist in ein Cytosol eingebettet, welches Myoglobin und die übrigen Zellorganellen wie Lysosomen, den Golgi-Apparat usw. enthält.

Die Kontraktion der Muskelfasern wird durch einen efferenten Nervenimpuls über eine Depolarisierung des Sarcolemms und damit des T-Systems ausgelöst. Die Depolarisierung bewirkt an den terminalen Cysternen eine Ca-Ausschüttung in das Cytosol. Bei einer bestimmten Ca-Ionen-Konzentration wird das Myosin ATPase System wirksam. Es gleiten nun die Filamente (Myosin und Actin) über einen im einzelnen noch nicht völlig geklärten Mechanismus, der an den Querbrücken der Filamente abläuft, ineinander. Dabei wird Energie über eine hydrolytische Spaltung von Adenosintriphosphat (ATP) verbraucht.

2.2. Fasertypenunterschiede

Wie in der Einleitung bereits angedeutet, stellen die Skelettmuskelfasern keinen einheitlichen Zelltyp dar. Sie können sich vielmehr hinsichtlich morphologischer und funktioneller Eigenschaften, aber auch durch ihre Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Noxen ganz erheblich unterscheiden. Dies hat schon früh zu einer Unterteilung der Skelettmuskelfasern in verschiedene Typen und Subtypen geführt.

Bereits 1678 nahm Stefano LORENZINI anhand der grobsinnlich erkennbaren Muskelfarbe eine Einteilung in rote

und weiße Muskulatur vor. Ende des 19. Jahrhunderts kam dann RANVIER (1873, 1874, 1880) zu der Annahme, daß sich rote Muskeln im Vergleich zu weißen langsamer kontrahieren. Weiterhin bestätigte er ältere Beobachtungen, daß die rote Muskulatur eine intensivere Blutversorgung als die weiße aufweist. Auch GRÜTZNER (1884) vermutete, daß Wirbeltiermuskeln aus 2 Fasertypen zusammengesetzt sind, einem dünn und dunkel gefärbten und einem anderen größeren und helleren. Die dunkle Farbe wurde auf im Plasma vorliegende Granula zurückgeführt. Aufgrund eigener Untersuchungen sah KNOLL (1891) diese Granula als Lipide an. Er schrieb die Farbunterschiede jedoch nicht den Granula, sondern dem intermyofibrillären Protoplasmagehalt zu und bezeichnete dementsprechend rote Fasern als protoplasmareich, weiße als protoplasmaarm. Bezüglich der Faserverteilung kam KNOLL (1891) zu dem Ergebnis, daß Muskeln, die einer Dauerbeanspruchung unterliegen, vorwiegend aus dunklen Fasern bestehen. 1919 zeigte BULLARD mittels der Sudan-III-Färbung das Vorkommen von 3 aufgrund ihres Fettgehaltes unterschiedlich anfärbbaren Fasertypen. Mit der Einführung spezieller histochemischer Methoden, insbesondere der Enzymhistochemie wurde es möglich, morphologische und bis zu einem gewissen Grad auch biochemische Eigenschaften verschiedener Fasertypen zu erfassen.

In der modernen histochemischen Technik werden vorwiegend enzymhistochemische Methoden zur Charakterisierung von Muskelfasern angewandt. Mit der Darstellung der Aktivität bestimmter Enzyme, welche für die Stoffwechselsituation einer Muskelzelle oder ihres Kontraktionsapparates bezeichnend sind, können biochemische, funktionelle und morphologische Teilaspekte gemeinsam erfaßt werden. Dadurch erweist sich die Enzymhistochemie als besonders geeignet für die Anwendung auf dem Gebiet der pathologisch-anatomischen Diagnostik, während rein funktionelle und biochemische Methoden eher experimentellen Arbeiten mit spezieller Zielsetzung vorbehalten sind. Erste enzymhistochemische Untersuchungen wurden von SEMENOFF (1935) durchgeführt, welcher die Aktivität der Succinatdehydrogenase, einem mitochondrialen Enzym des Zitronensäurezyklus, am Gewebeschnitt darzustellen versuchte. An dem von ihm verwendeten Amphibienskelettmuskel konnte er unterschiedliche Aktivitätsgrade des Enzyms in einzelnen Fasern feststellen. In der Folgezeit und insbesondere in den letzten 2 Jahrzehnten entstanden eine Fülle von Publikationen auf dem Gebiet der Muskelhistochemie. In Tabelle 1 sind die wichtigsten in diesen Untersuchungen erarbeiteten Kriterien zur Fasertypendifferenzierung angegeben.

Tabelle 1: Kriterien zur Fasertypeneinteilung
(modifiziert nach DUBOWITZ & BROOKE, 1973)

1. Anatomische Eigenschaften

- a) Farbe: rot - weiß
- b) Anfärbbarkeit: hell - dunkel
- c) Querschnitt: klein - groß
- d) Granula: viel - wenig
- e) Protoplasma: viel - wenig

2. Funktionelle Eigenschaften

- a) Kontraktionsgeschwindigkeit: langsam - schnell
- b) Ermüdungszeit: kurz - lang

3. biochemische - histochemische Eigenschaften

- a) Energiegewinnung: aerob - anaerob
- b) Enzyme des Kontraktionssystems: hohe Aktivität -
niedrige Aktivität

2.2.1. Histochemische Kriterien zur Fasertypen- differenzierung

Die für die Histochemie wichtigsten Eigenschaften sind unter Punkt 3 der Tabelle 1 genannt. Mit histochemischen Methoden lassen sich sowohl Enzyme der Energiegewinnung als auch Enzyme des Kontraktionssystems darstellen.

2.2.1.1. Enzyme des Energiestoffwechsels

Grundsätzlich können bei der Energiebereitstellung 2 Wege beschritten werden. Einmal kann ATP auf dem aeroben (oxidativen) Weg über die Einschleusung von C_2 - Bruchstücken vor allem aus dem Glucose- und Fettsäurenabbau in den Zitronensäurezyklus gewonnen werden. Die Energieausbeute ist auf diesem Wege relativ hoch. Skelettmuskelfasern mit bevorzugt oxidativer Ausrichtung zeigen demnach enzymhistochemisch eine hohe Aktivität an Enzymen aus dem Bereich des Zitronensäurezyklus.

Die wichtigsten in die Enzymhistochemie eingeführten Enzyme des oxidativen Stoffwechsels sind die Nicotinamid-adenin-dinucleotid-Diaphorase (NADH-D; EC 1.6.99.3., NADH: tetrazolium oxidoreductase) und die Succinatdehydrogenase (SDH; EC 1.3.99.1., succinate: (acceptor) oxidoreductase),

welche in den Mitochondrien lokalisiert sind. Beide zeigen in den einzelnen Muskelfasern ein weitgehend identisches Verhalten, wie DUBOWITZ und PEARSE (1960) an der Skelettmuskulatur von Mensch, Ratte und Taube nachweisen konnten. Fasern mit vergleichsweise kleinem Durchmesser sind durch eine starke Aktivität dieser oxidativen Enzyme gekennzeichnet, wie an der Muskulatur verschiedener Labortiere und auch des Schweines zu sehen ist (STEIN & PADYKULA, 1962; EDGERTON & SIMPSON, 1969; EDGERTON et al., 1970; RUTH & VAN VLEET, 1974). Als Bezeichnung für diese stark regierenden Fasern hat sich besonders in der Humanpathologie sowie den darauf bezogenen experimentellen Arbeiten der Terminus Typ I-Fasern durchgesetzt (ENGEL, 1962, 1970; BUNDSCHU & SUCHENWIRTH, 1973; KARPATI & ENGEL, 1967; BROOKE, 1973; VERITY & COLEMAN, 1973). Verschiedene Autoren (EDGERTON & SIMPSON, 1969; MOODY & CASSENS, 1968; SWATLAND & CASSENS, 1973 b; ANDERSEN et al., 1975) verwenden den Ausdruck "rote Fasern". Eine Übereinstimmung der Muskelfarbe mit der oxidativen Kapazität eines Muskels ist gesichert (ROMANUL, 1964; GAUTHIER, 1969). Relativ kleine Fasern mit geringer Aktivität an oxidativen Enzymen werden entsprechend als Typ II- oder "weiße Fasern" angesprochen.

Für verschiedene Spezies (Ratte, Meerschweinchen, Schwein u.a.) wird ein 3. Fasertyp beschrieben, welcher sowohl hinsichtlich des Durchmessers als auch der histochemischen

Aktivität von NADH-D und SDH eine Mittelstellung einnimmt und als "intermediär" bezeichnet wird (GAUTHIER, 1969; EDGERTON et al., 1970; SWATLAND & CASSENS, 1973 b).

Die zweite Möglichkeit der Energiegewinnung ist die der anaeroben Glycolyse. Ohne Sauerstoffverbrauch wird hierbei Glycogen über Glucose - 6 - Phosphat zu Lactat abgebaut. Dies ergibt ebenfalls eine gewisse ATP-Ausbeute, die jedoch erheblich unter der des aeroben Energiestoffwechsels liegt.

Von den Enzymen des anaeroben Metabolismus kommt histochemisch vorwiegend die Phosphorylase (EC 2.4.1.1., α - 1,4 - glucan orthophosphate glucosyltransferase) zur Anwendung. Auch die α - Glycerophosphat - dehydrogenase (α - GDH; EC 1.1.2.1.; L-glycerol-3 phosphat: (acceptor) oxidoreductase) kann nach BASS et al (1969) sowie PETER et al. (1972) als für diesen Stoffwechselweg typisches Enzym angesehen werden.

Phosphorylase und α - GDH zeigen ein bei Ratte, Meerschweinchen und Kaninchen im wesentlichen übereinstimmendes Verteilungsmuster (PEARSE, 1961; ROMANUL, 1964; EDGERTON & SIMPSON, 1969). Typ I-Fasern weisen eine geringe, Typ II-Fasern dagegen eine hohe glycolytische Aktivität auf. Dieses zur oxidativen Aktivität reziproke Verhalten trifft für Ratte, Mensch, Taube und Schwein zu (DUBOWITZ & PEARSE, 1960; MOODY & CASSENS, 1968; SWATLAND &

CASSENS, 1973 b; ANDERSEN et al., 1975; ASHMORE & DOERR, 1971). In intermediären Fasern reagiert die Phosphorylase wie die oxidativen Enzyme mittelgradig, was MOODY & CASSENS (1968), ANDERSEN et al. (1975) und ASHMORE & DOERR (1971) an der Schweinemuskulatur demonstrieren.

2.2.1.2. Energiesubstrate: Fett - Glycogen

Lipide kommen als Substrate des aeroben Stoffwechsels überwiegend in Typ I-Fasern zur Darstellung (DAVIES & GUNN, 1972; SWATLAND & CASSENS, 1973 b). Einige Autoren verwenden ausschließlich die Fettfärbung zur Fasertypendifferenzierung beim Schwein (BEECHER et al., 1965; DILDEY et al., 1970; MILLER et al., 1975).

Weniger charakteristisch ist die Verteilung des Glycogens. SWATLAND & CASSENS (1973 b) beobachteten Fasern mit und ohne Glycogen. Eine Bevorzugung bestimmter Fasertypen ist nicht erkennbar. Eine hohe Glycogenkonzentration stellen STEIN & PADYKULA (1962) in den Typ II-Fasern der Ratte fest, während die übrigen Fasern einen unterschiedlichen Gehalt aufweisen.

2.2.1.3. Enzyme des Kontraktionssystems

In enger räumlicher und funktioneller Beziehung zu dem Kontraktionssystem steht, wie unter Punkt 2.2. angeführt, die sog. myofibrilläre ATPase. Auch dieses Enzym ist histochemisch darstellbar. Unter bestimmten methodischen Bedingungen zeigen verschiedene Muskelfasern eine unterschiedliche Aktivität dieses Enzyms. Zwischen dem Ausfall der ATPase und der Kontraktionsgeschwindigkeit besteht offensichtlich eine enge Korrelation (BARNARD et al., 1971; ROBBINS et al., 1969; EDGERTON & SIMPSON, 1971; BURKE et al., 1971).

Die in der Routinediagnostik eingeführte Methode zur Darstellung der myofibrillären ATPase (EC 3.6.1.3.) läßt nach Ansicht zahlreicher Autoren bei den verschiedensten Tierarten lediglich eine Unterscheidung von 2 Intensitätsgraden zu (EDGERTON & SIMPSON, 1969; ENGEL, 1970; COOPER et al., 1970; BROOKE, 1973; SWATLAND & CASSENS, 1973 b), wobei die intermediäre und die Typ II-Faser eine starke, die Typ I-Faser dagegen eine schwache Reaktion zeigen.

BROOKE & KAISER (1969, 1970) nutzen das unter veränderten methodischen Bedingungen abweichende Verhalten der ATPase zu einer Erweiterung der Typendifferenzierung aus. Sie teilen Typ II-Fasern in 3 Subtypen auf, indem sie durch verschiedene im sauren Bereich liegende Praeinkubationen stufenweise die Aktivität dieses Enzyms hemmen. Bei

der als Typ II A angesprochenen Faser wird ab pH 4,6 die histochemische Reaktion dieses Enzyms nahezu vollständig aufgehoben. Bei Typ II B trifft dies für pH 4,3 und bei Typ II c für pH 3,9 zu.

2.2.1.4. Anwendungsmöglichkeiten der Histochemie zur Fasertypendifferenzierung

Üblicherweise werden 2 bis 3 Hauptfasertypen unterschieden. Bei entsprechender Verfeinerung der Methode kann jedoch noch eine größere Anzahl von Fasertypen differenziert werden, wie die bereits unter Abschnitt 2.2.1.3. angeführten Arbeiten von BROOKE & KAISER (1969, 1970) zeigen. ROMANUL (1964) unterscheidet an der Rattenmuskulatur 8 verschiedene Fasertypen, die Bezeichnungen von A bis H erhalten. Weitere Fasereinteilungsschemata und Typenbezeichnungen ergeben sich aus zum Teil erheblichen tierartlichen Unterschieden bzw. speziellen Fragestellungen. Sie sind für die vorliegende Untersuchung ohne besondere Bedeutung.

2.3.

Fasertypen beim Schwein

Beim Schwein werden in der Literatur die in der Tabelle 2 aufgeführten Fasertypenbezeichnungen nebeneinander verwendet.

Tabelle 2: Synonyma für Muskelfasertypen beim Schwein

Typ I	Typ II	intermediär
rot	weiß	intermediär
Ø red	α _{white}	α _{red}

Der Skelettmuskel des erwachsenen Tieres ist durch eine geschlossene Formation von Muskelfasern mit polygonalem Querschnitt charakterisiert (COOPER et al., 1970). Im allgemeinen haben Typ II-Fasern den größten Durchmesser, Typ I-Fasern den kleinsten, während die intermediären Fasern eine Zwischenstellung einnehmen (SWATLAND & CASSENS, 1973 b). Typ II-Fasern, die eine starke Aktivität glycolytischer Enzyme sowie der myofibrillären ATPase und eine schwache Reaktion oxidativer Enzyme zeigen, liegen vorwiegend in der Faserbündelperipherie. Typ I-Fasern sind im

Bündelzentrum zu finden. Sie besitzen eine geringe glycolytische und eine hohe oxidative Kapazität bei schwacher ATPase Reaktion. In unmittelbarer Nachbarschaft zu den Typ I-Fasern befinden sich intermediäre Fasern mit mittelgradiger Aktivität der Enzyme des Energiestoffwechsels. Die myofibrilläre ATPase verhält sich wie in Typ II-Fasern (RUHT & VAN VLEET, -1974).

2.3.1. Praenatale Muskelfaserentwicklung beim Schwein

THURLEY (1972), ASHMORE et al. (1973), SWATLAND (1973) sowie SWATLAND & CASSENS (1973 a) unterscheiden in der fetalen Schweinemuskulatur zwei unterschiedliche Zelltypen. Der von den letzteren als primäre fetale Muskelfaser angesprochene Myotubus zeichnet sich durch subsarcolemmal angeordnete Myofibrillen und zentral gelegene Kerne aus. Dieser Zelltyp wird bereits am 35. Trächtigkeitstag angetroffen (ASHMORE et al., 1973). Im Verlauf der weiteren Entwicklung schieben sich die Myofibrillen in das Zentrum der Muskelfaser, während die Kerne in den subsarcolemmalen Bereich (SWATLAND & CASSENS, 1973 a) wandern. Die eben genannten Autoren beobachteten ab dem 50. Tag sogenannte sekundäre fetale Muskelfasern, deren Myofibrillen axial und deren Kerne subsarcolemmal

anzutreffen sind. Sie führen diesen Zelltyp auf eine Fusion von mononukleären Myoblasten zurück, die an der Oberfläche von primären fetalen Muskelfasern abläuft.

Entsprechend sind die sekundären fetalen Muskelfasern in der Peripherie der sich entwickelnden Faserbündel angeordnet, während die in ihrem Durchmesser wesentlich größeren primären mehr zentral liegen.

Mit zunehmender Trächtigkeitsdauer erfolgt durch ein vermehrtes Größenwachstum der sekundär gebildeten Fasern eine Annäherung der Fasergröße (ASHMORE et al., 1973).

Sämtliche Muskelfasern reagieren am 60. Tag bei der myofibrillären ATPase-Reaktion nach alkalischer Praeinkubation positiv (ASHMORE et al., 1973).

Am 75. Trächtigkeitstag unterscheiden ASHMORE et al. (1973) α - (Typ II- bzw. intermediäre) und β - (Typ I) Fasern anhand der myofibrillären ATPase sowohl nach saurer als auch nach alkalischer Praeinkubation, wobei die α -Faser der sekundären und die β -Faser der primären fetalen Muskelfaser entsprechen sollen (SWATLAND, 1975).

ASHMORE et al. (1973) sehen hierin die Erklärung für die Verteilung der α - und β -Fasern beim adulten Tier. Glycogenlager können in sämtlichen Muskelfasern nachgewiesen werden (ASHMORE et al., 1973). Auch die Aktivität der SDH und der NADH-Diaphorase (SWATLAND & CASSENS, 1973 a)

ist mit mehr oder weniger einheitlicher Intensität anzutreffen, so daß hiermit eine Faserdifferenzierung nicht möglich ist.

Phosphorylase-Aktivität weisen ASHMORE et al. (1973) ab dem 110. Trächtigkeitstag in größeren α -Fasern nach, was sie bereits als Transformation von α R- (intermediären) Fasern zu α W -(Typ II) Fasern deuten.

2.3.2. Postnatale Muskelfaserentwicklung beim Schwein

Über den Status der Skelettmuskulatur beim neugeborenen Schwein liegen widersprüchliche Angaben vor.

Nach COOPER et al. (1970) sind am ersten Lebenstag die im Querschnitt noch abgerundeten Muskelfasern in lockeren Verbänden angeordnet. Gelegentlich werden noch Fasern im Myotubenstadium angetroffen. Die Fasergrößen zeigen dabei eine erhebliche Variationsbreite. Die typischen morphologischen Charakteristika der entwickelten Muskelfaser werden erst ab dem Alter von 3 Wochen angetroffen. Mit verschiedenen enzymhistochemischen Methoden (NADH-D, Phosphorylase und myofibrilläre ATPase) können COOPER et al. (1970) innerhalb der ersten 24 Stunden keine Fasertypendifferenzierungen vornehmen. Allerdings deutet sich in ihren Untersuchungen eine etwas deutlichere Reaktion der NADH-D

in großen, zentral im Bündel gelegenen Fasern bereits an. CASSENS et al. (1968) sehen auch bei der Fettdarstellung keine Typenunterschiede. Ab der 1. Lebenswoche sind rote Fasern nach den von COOPER et al. (1970) gewählten Kriterien zu differenzieren. Eine Unterscheidung von weißen und intermediären Fasern ist nach diesen Autoren erst ab der 4. Lebenswoche möglich.

SWATLAND (1975) betrachtet die myofibrilläre ATPase-Reaktion bei pH 4,35 als einzige der von ihm durchgeführten histochemischen Reaktionen, welche eine routinemäßige Differenzierung innerhalb der ersten 24 Stunden zuläßt. Bei pH 10,4 ermöglicht die ATPase lediglich in wenigen Fällen eine deutliche Unterscheidung. In Schnitten, die eine solche Unterscheidungsmöglichkeit zeigen, neigen zentral in Faserbündeln gelegene Fasern mit vergleichsweise großem Durchmesser zu einer geringeren Anfärbbarkeit. Bei der PAS-Färbung stellt sich bis zum 10. Tag in allen Fasern ein deutlich gefärbtes Sarcoplasma dar. Die Phosphorylase verhält sich bis zum 4. Tag extrem variabel. Mit 10 Tagen wird schließlich auch eine einheitliche Unterscheidung anhand der ATPase bei pH 10,4 und der Phosphorylase-Reaktion möglich.

ASHMORE et al. (1972) stellen in einem Alter bis zu 2 Wochen deutliche Unterschiede in der myofibrillären

ATPase-Reaktion bei pH 9,4 fest und teilen die Muskelfasern entsprechend in α - (Typ II bzw. intermediär) und β - (Typ I) Fasern ein. Die SDH weist in sämtlichen Muskelfasern eine starke Aktivität auf, was auch von VAN DEN HENDE et al. (1972) bestätigt wird. Weiterhin beobachten ASHMORE et al. (1972), daß die Phosphorylase in α -Fasern, die in der Peripherie der Faserbündel liegen, schwach reagiert, während sie in α - und β -Fasern, die sich im Inneren befinden, keine Aktivität zeigt. Lipidtropfen sind in zahlreichen Fasern zu finden, größere α -Fasern sind allerdings bei der Fettfärbung negativ.

Im Alter von 2 Wochen zeigen nach ASHMORE et al. (1972) einige α -Fasern eine reduzierte SDH-Reaktion. Ab diesem Zeitpunkt wird ein rapides Größenwachstum dieser Fasern beobachtet, das von einer Intensivierung der Phosphorylaseaktivität begleitet wird. Dieser Vorgang führt schließlich zu einem Überwiegen dieser nun als α W (Typ II) bezeichneten Fasern beim adulten Tier. Durch biochemische Untersuchungen bestätigen VAN DEN HENDE et al. (1968) diese Entwicklung zum anaerob akzentuierten Metabolismus der Skelettmuskulatur beim Schwein.

2.4. Anwendungsbereiche der Histochemie des Skelettmuskels

Der wesentliche Grund für die Einführung einer histochemischen Fasertypendifferenzierung in die Muskelpathologie ergibt sich aus der Tatsache, daß insbesondere beim Menschen gewisse Muskelerkrankungen nur an bestimmten Fasertypen primär manifest werden. Das Verhalten bestimmter Enzyme und Färbungen zeigt deutlich cytoarchitektonische Veränderungen in der einzelnen Muskelfaser an (DUBOWITZ & BROOKE, 1973; CANCELLA & VERITY, 1973; BECKETT & BOURNE, 1973; BROOKE, 1973). Somit ist die Histochemie für die exakte Diagnosestellung bei Muskelerkrankungen nahezu unentbehrlich geworden. Auch beim Schwein hat sich die Histochemie an der Skelettmuskulatur als wertvoll erwiesen. Bei der durch Vitamin E/Selen-Mangel verursachten Muskeldystrophie des Schweines wird nach RUTH und VAN VLEET (1974) im Anfangsstadium selektiv die Typ I-Faser zerstört, während die Typ II-Faser einen Verlust der Phosphorylaseaktivität zeigt. Auch bei dem wirtschaftlich bedeutsamen Problem der Streßempfindlichkeit und den damit zusammenhängenden Erscheinungsformen der Belastungsmypopathie trug die Histochemie zur Klärung der Pathogenese bei. Es zeigte sich nämlich bei der Untersuchung von Mastschweinen, daß Tiere, die für diese Erkrankungen empfänglich sind, einen

höheren Anteil an Typ II- und intermediären Fasern als unempfindliche Schweine aufweisen und somit zu einer Intensivierung des anaeroben Stoffwechsels neigen (COOPER et al., 1969; DILDEY et al., 1970; SWATLAND & CASSENS, 1973 b).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methodik

Bei den Versuchstieren handelt es sich um gesunde DVL-Ferkel von adäquat ernährten Kontrollisauen aus Fütterungsversuchen.

Die Ferkel verblieben bis zur Untersuchung bei der Muttersau. In Tabelle 3 sind die Untersuchungszeitpunkte sowie Zahl und Geschlechtsverteilung der verwendeten Ferkel aufgeführt.

Tabelle 3

Tiermaterial nach Alter und Geschlecht

Alter	Tiere insgesamt	männlich	weiblich
1 Tag	7	2	5
3 Tage	6	3	3
6 Tage	6	4	2
9 Tage	4	2	2
12 Tage	6	4	2

Den Ferkeln wurden unter Vollnarkose (50-100 mg Inactin^R/kg intraperitoneal) Muskelproben aus dem M. longissimus

dorsi sowie aus dem M. quadriceps femoris entnommen. Anschließend wurden die Proben unter isotoner Spannung gehalten (für ca 30 Sekunden). Nach Zerkleinerung der Proben auf Linsengröße wurden diese in durch flüssigen Stickstoff gekühltes Isopentan bei -150°C schockgefroren. Das Material wurde bis zur weiteren Bearbeitung bei -70°C gelagert.

Sämtliche Färbungen und Enzymreaktionen wurden an 10 μ dicken Kryostatschnitten durchgeführt.

An Färbungen wurden die modifizierte Trichromfärbung nach Gomori (ENGEL & CUNNINGHAM, 1963), die Lipidfärbung mit Fettrot 7B sowie die Karminfärbung nach Best zur Darstellung des Glycogens durchgeführt.

Die Aktivität der NADH-D, SDH und menadionabhängigen ~~X~~-GDH wurden nach der von PEARSE (1972) angegebenen Standardmethode unter Verwendung von Nitro-BT demonstriert. Zur Phosphorylasedarstellung wurde die von ERÄNKÖ & PALKAMA (1961) modifizierte Methode nach TAKEUCHI und KURIAKI (1955) angewandt und zur Herstellung von Dauerpräparaten durch das Verfahren von SAWYER et al. (1965) ergänzt.

Die myofibrilläre ATPase wurde nach den Angaben von DUBOWITZ & BROOKE (1973) dargestellt. Abweichend davon erfolgte die Praeinkubation bei pH 4,6, 4,3 und 3,9.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. *M. longissimus dorsi* am 1. Lebenstag

Das morphologische Bild der Skelettmuskulatur des neugeborenen Ferkels unterscheidet sich ganz erheblich von dem des adulten Schweines. Die Einzelfasern liegen in einem mehr oder weniger lockeren Verband und sind meist abgerundet. Sowohl zwischen als auch in den Fasern finden sich in unterschiedlicher Menge optisch leere Räume. Die Fasern sind in Gruppen angeordnet, wobei mehrere kleinere Fasern meist eine größere umgeben. Die zentral in einem solchen Faserbündel gelegenen Skelettmuskelzellen zeigen häufig ein großes zentrales Lumen, in welchem auch Zellkerne anzutreffen sind. Es handelt sich um einen Zustand der Unreife, welcher von Tier zu Tier variiert.

Bei der Darstellung der NADH-D liegt das Reaktionsprodukt in der einzelnen Faser über die gesamte Querschnittsfläche zerstreut vor. Unterschiedliche Fasertypen sind mit diesem Enzym nicht sicher anzusprechen. Gelegentlich weisen große, zentral im Faserbündel gelegene Fasern eine etwas stärkere Aktivität auf.

Die SDH-Reaktion fällt im wesentlichen wie die NADH-D aus. Fasertypenunterschiede sind hier jedoch nicht angedeutet.

Die α -GDH ermöglicht bei allen untersuchten Tieren schon zu diesem Zeitpunkt eine eindeutige Typendifferenzierung (Abbildung 1). Die großen, zentral gelegenen Fasern enthalten relativ wenige, disseminiert vorliegende Körnchen des Reaktionsproduktes (Typ I-Fasern). Die kleineren Fasern, welche die zentralen Fasern umgeben, zeigen eine stärkere Aktivität und sind deshalb intensiv blau gefärbt (Typ II-Fasern).

Bei der Phosphorylase-Reaktion ist die Querschnittfläche der Muskelfasern von einem wabenartigen Muster durchzogen. Fasertypendifferenzierungen sind in keinem Falle möglich.

Wie bei der α -GDH ist auch bei der myofibrillären ATPase bei pH 9,4 eine einwandfreie Unterscheidung von Fasertypen möglich (Abbildung 2). An Serienschnitten zeigt sich, daß Fasern mit geringer Aktivität der α -GDH (Abbildung 1) auch bei der ATPase-Darstellung schwach reagieren und umgekehrt. Beide Fasertypen weisen auf ihrer Querschnittfläche zahlreiche punktartige, verstreute, optisch leere Räume auf. Die Zellgrenzen sind relativ scharf konturiert.

Bei der ATPase-Reaktion mit sauren Praeinkubationen zeigen sämtliche Typ I-Fasern in Serienschnitten bei pH 4,6 und pH 4,3 eine positive Reaktion (Abbildung 3 und 4), die bei pH 4,3 manchmal etwas schwächer ausfällt. Nahezu alle Typ II-Fasern sind deutlich in ihrer enzymatischen

Aktivität gehemmt und treten deshalb lediglich als graue Schatten in Erscheinung. Gelegentlich sind in unmittelbarer Nachbarschaft von Typ I-Fasern Typ II C-Fasern anzutreffen, die sich bei pH 4,6 und pH 4,3 wie der Typ I verhalten (Abbildung 4). Bei pH 3,9 tritt eine vollständige Hemmung der ATPase in allen untersuchten Fasern ein.

Fetttröpfchen sind disseminiert in allen Muskelfasern zu finden. Eine Bevorzugung bestimmter Fasern ist nicht erkennbar.

Das Glycogen liegt ähnlich der Phosphorylase in einem wabenartigen Verteilungsmuster vor. Geringgradige Unterschiede im Glycogengehalt der Einzelfasern sind zwar vorhanden, lassen jedoch keinen Bezug zu bestimmten Fasertypen erkennen.

3.2.2. *M. longissimus dorsi* am 3. Lebenstag

Am 3. Lebenstag ist im Vergleich zum neugeborenen Tier eine deutliche Veränderung eingetreten. Die Einzelfasern sind (außer bei einem Tier) innerhalb des Faserbündels zu einem weitgehend geschlossenen Verband zusammengefaßt. Myotubenstrukturen sowie zentral in der Faser gelegene Kerne sind weniger häufig anzutreffen.

Die NADH-D reagiert zu diesem Zeitpunkt in Typ I-Fasern durchweg stärker als in den peripher gelegenen Fasern. Auch

die Phosphorylase zeigt in Typ I-Fasern gelegentlich eine Abschwächung ihrer Aktivität. Eine klare Differenzierung ist jedoch wegen der nur dezent vorhandenen Unterschiede noch nicht möglich. Anhand der übrigen Enzymdarstellungen und Färbungen sind außer den rein morphologisch bedingten Veränderungen keine vom 1. Tag abweichenden Befunde zu erheben.

3.2.3. *M. longissimus dorsi* am 6. Lebenstag

Ab dem 6. Tag sind zentral gelegene Kerne sowie Myotuben nur noch äußerst selten anzutreffen. Bei der Phosphorylase-Darstellung sind die Intensitätsunterschiede bei allen Tieren ausreichend, um eine Unterteilung in Typ I- und Typ II-Fasern vorzunehmen (Abbildung 5). Auch bei der Fettfärbung sind jetzt deutliche Unterschiede zu erkennen (Abbildung 7). Typ I-Fasern und diesen unmittelbar benachbarte Typ II-Fasern weisen eine relativ starke Fettspeicherung auf, während in den übrigen Typ II-Fasern weit weniger, oft sogar überhaupt keine Lipidtröpfchen nachzuweisen sind. Das Verteilungsmuster der NADH-D hat im Vergleich zum 3. Lebenstag zwar keine Änderung erfahren, jedoch sind durch eine Verstärkung der Intensitätsunterschiede die beiden Fasertypen leichter anzusprechen (Abb. 6).

3.2.4. *M. longissimus dorsi* am 9. Lebenstag

Am 9. Tag können erhebliche Unterschiede im Querschnittsdurchmesser von Typ I- und zahlreichen Typ II-Fasern nicht mehr festgestellt werden. Dieser Größenausgleich ist durch ein kontinuierliches absolutes und relatives Wachstum der letzteren zustande gekommen. Zu diesem Zeitpunkt ist auch eine wesentliche Änderung des Bildes der ATPase bei pH 4,6 eingetreten (Abbildung 9). Regelmäßig sind mehrere Typ II-Fasern, die in unmittelbarer Nähe von Typ I-Fasern liegen, in ihrer Enzymaktivität deutlich gehemmt (Typ II A), während weiter peripher gelegene Fasern nur andeutungsweise oder überhaupt nicht schwächer reagieren (Typ II B). Bei 3 von 6 untersuchten Tieren kann dieser Befund bereits am 6. Tag erhoben werden.

3.2.5. *M. longissimus dorsi* am 12. Lebenstag

Wie aus dem Bildmaterial ersichtlich, hat sich der Querschnittsdurchmesser vom 1. Tag an kontinuierlich vergrößert, so daß am 12. Tag etwa das 2-3fache des ursprünglichen erreicht wird.

Die SDH-Reaktion läßt zu diesem Zeitpunkt sehr dezente Intensitätsunterschiede erkennen, die allerdings eine

Fasertypendifferenzierung noch nicht zulassen. Bei der Fettfärbung (Abbildung 16) zeigt sich, daß Typ I- und Typ II A-Fasern eine starke Fettspeicherung aufweisen, während Typ II B-Fasern keine oder nur wenig Lipidtröpfchen enthalten. Die α -GDH läßt bei allen Tieren andeutungsweise intermediäre Fasern erkennen, die etwas mehr Granula als Typ I-Fasern enthalten (Abbildung 15). Am Serienschnitt zeigt sich, daß es sich hierbei um Typ II A-Fasern (Abbildung 12) handelt. Die NADH-D reagiert in den Typ II A-Fasern mit gleicher Intensität wie in Typ I-Fasern (Abbildung 14).

Zusammengefaßt sind diese Ergebnisse in Tabelle 4 wiedergegeben.

3.2.6. Befunde am M. quadriceps femoris

Bei den Enzymreaktionen sind am M. quadriceps im wesentlichen die gleichen Befunde zu erheben. Eine Ausnahme bildet die NADH-D. Mit der Darstellung dieses Enzyms ist am M. quadriceps eine echte Fasertypenunterscheidung erst am 9. Tag möglich. Auch die charakteristische Fettverteilung stellt sich erst am 9. Tag ein. Die Anordnung der Fasertypen unterscheidet sich von der des M. longissimus dorsi

durch eine weniger regelmäßige Lagebeziehung der Fasern untereinander, dh. daß die Kranzstruktur oft nur noch sehr schwer oder überhaupt nicht mehr zu erkennen ist.

Befunde am M. longissimus dorsi des Schweines in der Neugeborenenphase

Enzym bzw. Färbung	NADH-D	α -GDH	Phosphorylase	ATPase pH 9,4	ATPase pH 4,6	ATPase pH 4,3	Fett
Alter 1. Tag	-	Typ I: stark + Typ II: stark +	-	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	-
3. Tag	Typ I: stark + Typ II: schwach +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	-	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	-
6. Tag	Typ I: stark + Typ II: schwach +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	Bündelzentrum viel, peripher wenig Fett
9. Tag	Typ I: stark + Typ II: schwach +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I, IIB u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA u. IIB: schwach +	Bündelzentrum viel, peripher wenig Fett
12. Tag	Typ I u. IIA: stark + übrige Typ II Fasern: schwach +	Typ I: schwach + Typ IIA: mittelgr. + übrige Typ II Fasern: stark +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I: schwach + Typ II: stark +	Typ I, IIB u. IIC: stark + Typ IIA: schwach +	Typ I u. IIC: stark + Typ IIA u. IIB: schwach +	Typ I u. IIA viel, übrige Fasern wenig Fett

- = weitgehend einheitliche Reaktion in sämtlichen Muskelfasern

4. Diskussion

Wie bereits ausgeführt, liegt eine Vielfalt von Schemata zur Fasertypeneinteilung vor. Hierdurch wird sowohl das Verständnis als auch der Vergleich von Untersuchungsergebnissen erheblich erschwert. In Anbetracht dieser Tatsache stellen BROOKE & KAISER (1970) folgende Forderungen an eine Muskelfasertypisierung:

- 1) Einteilung ausschließlich nach den tatsächlich untersuchten Eigenschaften
- 2) Praktische Anwendungsmöglichkeiten auf experimentellem und pathologischem Gebiet
- 3) Deutliche Unterscheidungsmerkmale unter Vermeidung fließender Übergänge

Beim Anlegen dieses Maßstabes bietet sich an, die Begriffe Typ I-, Typ II- und intermediäre Fasern zu verwenden. Es besteht kein Anlaß, diese in die humanmedizinische Diagnostik und Forschung eingeführte Terminologie durch anderslautende Bezeichnungen zu ersetzen, da sie auch auf die Skelettmuskulatur des Schweines zwanglos übertragen werden können.

Wie die eigenen Ergebnisse zeigen, kann die Morphologie der Skelettmuskulatur beim Ferkel in den ersten

Lebenstagen von Individuum zu Individuum variieren.

Offensichtlich finden sich fließende Übergänge von relativ gut ausgereiften Faserverbänden bis zu erheblich unterentwickelten Arealen. Bei weiterer Ausdehnung der Unterentwicklung insbesondere im Bereich der Adduktorenmuskulatur treten klinische Erscheinungen in Form von Beinspreizen (Splay leg-Syndrom, THURLEY et al., 1967; BERGMANN, 1976) auf. Die Gründe für diese Entwicklungsunterschiede sind bislang nicht eindeutig geklärt. Möglicherweise spielt neben individuellen Faktoren, wie z.B. intrauteriner Versorgung, auch genetische Faktoren eine Rolle (THURLEY et al., 1967; THURLEY & DONE, 1969). Nach wenigen Tagen ist dieses Entwicklungsdefizit nach unseren Beobachtungen und denen aus der Literatur weitgehend ausgeglichen.

Die wenig einheitliche Situation in den ersten Lebenstagen erschwert die Vergleichbarkeit von morphologischen Befunden sowohl innerhalb eines Versuches als auch von Untersuchungen verschiedener Autoren.

Bei den enzymhistochemischen Befunden lassen sich vom ersten Lebenstag an zumindest 2 Fasertypen eindeutig differenzieren. Hierfür geeignet sind die myofibrilläre ATPase, auch nach Praeinkubation in sauren pH-Bereichen sowie die menadiongebundene α -GDH. Während für die letztere beim Ferkel und auch beim erwachsenen Schwein keine Berichte aus der Literatur vorliegen, sind die Angaben hinsichtlich der myofibrillären ATPase unterschiedlich.

COOPER et al. (1970) können am ersten Lebenstag keine Unterschiede feststellen. ASHMORE et al. (1973) dagegen nehmen schon in der späten Fetalphase mittels dieses Enzyms eine Differenzierung in 2 Fasertypen vor. Die Ergebnisse von SWATLAND (1975), die zwar wegen methodischer Unterschiede nur bedingt vergleichbar sind, stimmen mit den eigenen Untersuchungen weitgehend überein. Im Bezug auf NADH-D (COOPER et al., 1970; SWATLAND, 1975), SDH (VAN DEN HENDE et al., 1972; ASHMORE et al., 1973), Phosphorylase (SWATLAND, 1975), Fett (CASSENS et al., 1968) und Glycogen (SWATLAND, 1975) decken sich die eigenen Ergebnisse des 1. Lebenstages mit den Beschreibungen aus der Literatur. So zeichnen sich bei der NADH-D am ersten Lebenstag geringgradige Fasertypenunterschiede ab. Aufgrund der SDH- und Phosphorylase-Reaktion sind keine Unterschiede zu erkennen. Fett ist in allen Fasern nachzuweisen, desgleichen Glycogen. Ausführliche Untersuchungen in der Neugeborenenphase liegen vor allem auch bei der Ratte (DUBOWITZ, 1965; BROOKE et al., 1971) vor, die jedoch in ihrem Reifegrad weit hinter dem Ferkel zurückliegt. Ein Vergleich der Skelettmuskelentwicklung anderer Species mit der des Schweines erscheint wegen derartiger tierartlicher Unterschiede wenig sinnvoll.

Die histochemischen Bilder der folgenden Altersabschnitte ergeben keine grundsätzlichen Differenzen zu den

Ergebnissen anderer Autoren. Es gelang jedoch, die Entwicklung des Verteilungsmusters von Lipiden und NADH-D in ihrem weiteren zeitlichen Ablauf genauer zu bestimmen, sowie das Verhalten der $\mathcal{L}$ -GDH und der ATP-ase bei sauren Praeinkubationen zu definieren. Es konnte festgestellt werden, daß das am 1. Lebenstag in nahezu allen Fasern gespeicherte Fett ab dem 6. Tag in peripher gelegenen Typ II-Fasern deutlich abnimmt. Bei der NADH-D Reaktion können Fasertypen ab dem 3. Lebenstag angesprochen werden. Die ATPase läßt ab dem 9. Tag eine Unterteilung in 4 unterschiedliche Fasertypen (Typ I, IIA, IIB, IIC) zu, während bei der $\mathcal{L}$ -GDH erst ab dem 12. Lebenstag - und dies nur undeutlich - intermediäre Fasern angesprochen werden können. Allerdings setzt die Bestimmung der ATPase-Subtypen die Beurteilung von Serienschnitten voraus, wodurch der technische Aufwand im Vergleich zur $\mathcal{L}$ -GDH größer wird.

Beide Enzyme zeichnen sich dadurch aus, daß sie eine Fasertypendifferenzierung ab dem 1. Lebenstag erlauben. Der Anwendungsbereich der $\mathcal{L}$ -GDH kann jedoch nicht ohne weiteres mit dem der ATPase verglichen werden, da es sich bei der letzteren um ein Enzym des Kontraktionssystems, bei der $\mathcal{L}$ -GDH dagegen um ein Enzym des Energiestoffwechsels handelt. Für Fragestellungen aus dem Gebiet der Pathologie ist nicht allein die Typendifferenzierung von Bedeutung, sondern auch die Reaktion

der verschiedenen Enzyme auf bestimmte Noxen. So zeigen zum Beispiel die Untersuchungen von RUTH & VAN VLEET (1974), daß im Frühstadium der ernährungsbedingten Muskeldystrophie des Schweines in Typ II-Fasern die myofibrilläre ATPase eine unverminderte Aktivität behält, während die Phosphorylase als Enzym des Glycolysestoffwechsels mit einer Reduktion ihrer Aktivität reagiert.

5. Zusammenfassung

Es wurde die Fasertypenentwicklung der Ferkelmuskulatur in den ersten Lebenstagen mit enzymhistochemischen und färbereichen Methoden untersucht. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- 1) Am ersten Lebenstag lassen sich mittels der myofibrillären ATPase sowie der erstmals beim Schwein angewendeten menadiongebundenen α -GDH zwei Hauptfasertypen (Typ I und Typ II) unterscheiden. Weiterhin gelang es, zu diesem Zeitpunkt Typ II C-Fasern (saure Praeinkubation bei myofibrillärer ATPase) darzustellen. Alle Fasern sind deutlich lipidhaltig.
- 2) Ab dem 3. Tag wird an bestimmten Muskeln (M. longissimus mdorsi) zunehmend eine Differenzierung mit Hilfe der NADH-D möglich.
- 3) Ab dem 6. Tag läßt der Fettgehalt selektiv in peripher im Faserbündel gelegenen Typ II-Fasern nach. Die Phosphorylase-Reaktion ermöglicht ab dem 6. Tag eine klare Unterscheidung von 2 Fasertypen (Typ I- und Typ II-Fasern).
- 4) Ab dem 9. Tag können anhand der myofibrillären ATPase mit Praeinkubationen 4 Fasertypen unterschieden werden (Typ I-, Typ II A-, B- und C-Fasern).

- 5) Ab dem 12. Tag zeichnet sich auch bei der Darstellung der menadiongebundenen α -GDH in Typ II A-Fasern eine intermediäre Reaktion ab. Weitere Charakteristika der Typ II A-Fasern sind ein hoher Lipidgehalt sowie eine starke Aktivität der NADH-D.

Summary

The fibertype development of piglet striated muscle during the first 12 days of life was investigated by enzyme histochemical and staining methods. These are the results:

- 1) On the first day two main fiber types (type I and type II) are distinguishable using myofibrillar ATP-ase or menadiene-linked α -GDH. Furthermore it is possible to demonstrate type II C fiber (acid preincubation, myofibrillar ATP-ase). At this time all fibers contain a lot of lipids.
- 2) From the 3rd day on the NADH-reaction shows a slight difference between the two main fiber types in some individual muscles (e.g. M.longissimus dorsi).
- 3) From the 6th day on the lipid content of the type II fibers situated at the periphery of the bundles decreases selectively. The phosphorylase reaction allows now a distinction between two fiber types (type I and type II)
- 4) From the 9th day on a further subdivision is possible. Using myofibrillar ATP-ase (and preincubations) 4 fiber types (type I, Type II A, B, and C) are demonstrable.

- 5) On the 12th day the menadione-linked α -GDH shows 3 different fiber types (type I, type II and an intermediate type). Besides the moderate α -GDH-reaction the intermediate (type II A) fiber type is characterized by a strong NADH-activity and a high lipid content.

6. Legende

1. Tag: Abb. 1 - 4 (Serienschnitte), Endvergrößerung 280 x

Abb. 1 : α -GDH; Typ I-Fasern (hell) kranzartig von Typ II-Fasern (dunkel) umgeben

Abb. 2 : myofibrilläre ATPase, pH 9,4; Typ I-Fasern (hell) kranzartig von Typ II-Fasern (dunkel) umgeben

Abb. 3 : ATPase, pH 4,6; Hemmung der Aktivität von Typ II-Fasern; links oben stark reagierende Typ II-Faser

Abb. 4 : ATPase, pH 4,3; Verteilungsmuster wie bei pH 4,6; links oben Typ II C-Faser (↓)

6. Tag: Abb. 5 - 7 (Serienschnitte), Endvergrößerung 240 x

Abb. 5 : Phosphorylase; deutlich geringere Aktivität in Typ II-Fasern

Abb. 6 : NADH-D; stark reagierende Typ I-Fasern und schwach reagierende Typ II-Fasern

Abb. 7 : Fettfärbung; geringe bis fehlende Fettspeicherung in peripher gelegenen Typ II-Fasern

9. Tag: Abb. 8 - 10 (Serienschnitte), Endvergrößerung 240 x

Abb. 8 : myofibrilläre ATPase, pH 9,4; Typ I- und Typ II-Fasern

Abb. 9 : ATPase, pH 4,6; Aktivitätshemmung in Typ II A-Fasern (↓)

Abb. 10 : ATPase, pH 4,3; Aktivitätshemmung in Typ II A- und Typ II B-Fasern, Typ II C-Fasern (↓) in unmittelbarer Nachbarschaft zu Typ I-Fasern

12. Tag : Abb. 11 - 16 (Serienschnitte), Endvergrößerung 240x

Abb. 11 : myofibrilläre ATPase, pH 9,4; Typ I- und Typ II-Fasern

Abb. 12 : ATPase, pH 4,6; Typ I-, Typ II A (↓) und Typ II B-Fasern

Abb. 13 : ATPase, pH 4,3; Typ I- und Typ II-Fasern

Abb. 14 : NADH-D; starke Reaktion in Typ I- und Typ II A-Fasern (↓)

Abb. 15 : α -GDH; intermediäre Reaktion in Typ II A-Fasern (↓)

Abb. 16 : Fett; Fettspeicherung in Typ I- und Typ II A- (↓) Fasern

Abbildungen

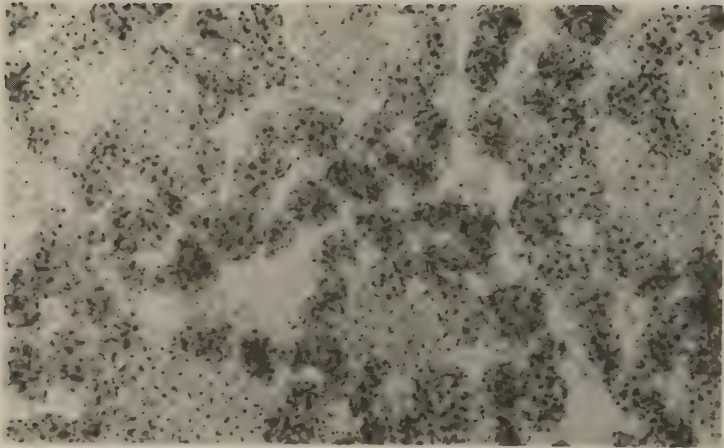


Abb. 1

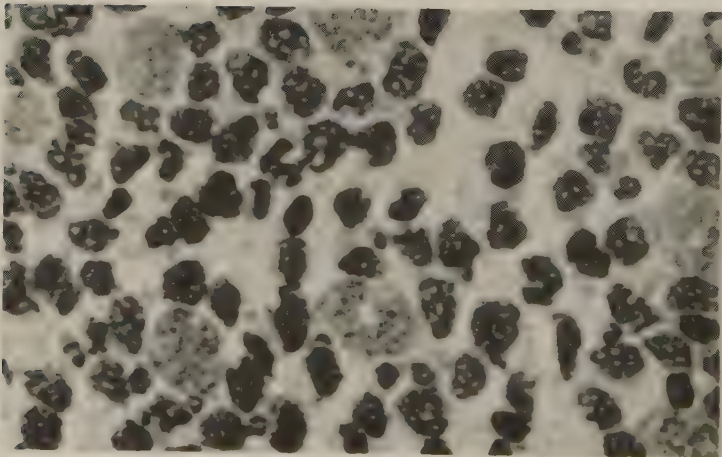


Abb. 2

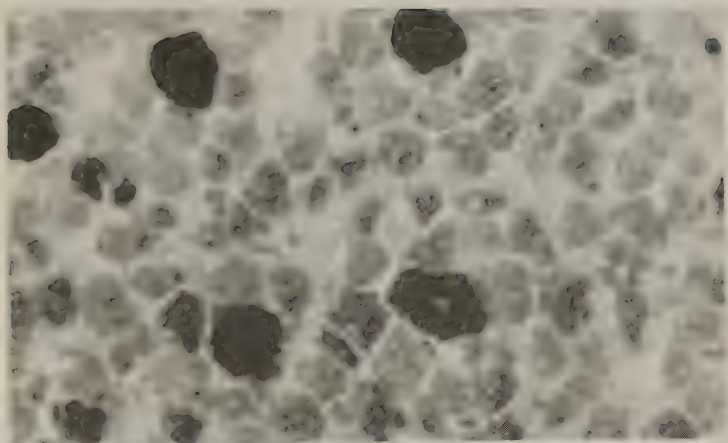


Abb. 3

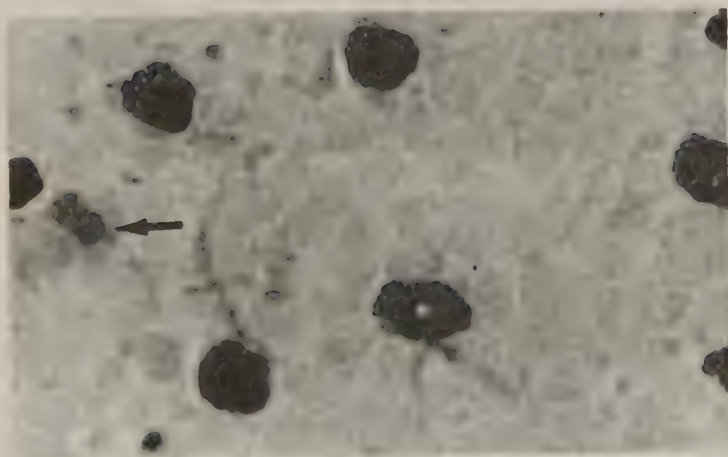


Abb. 4

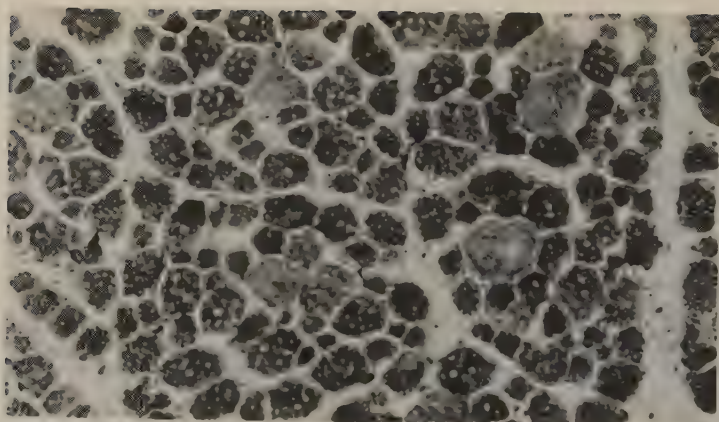


Abb. 5

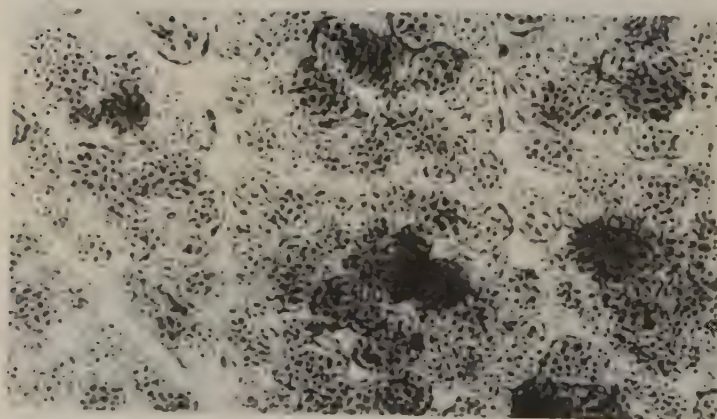


Abb. 6

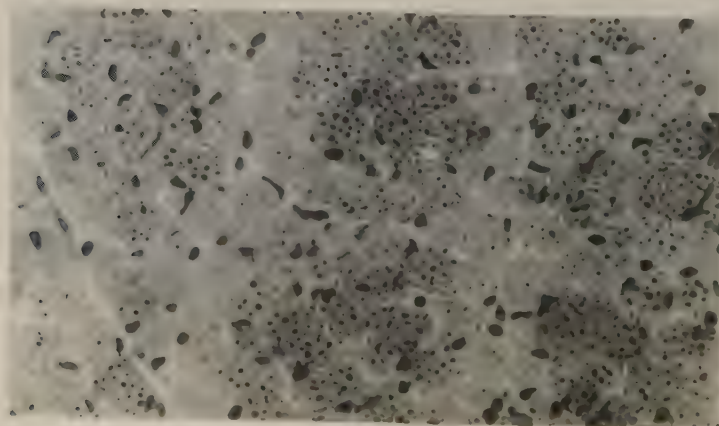


Abb. 7

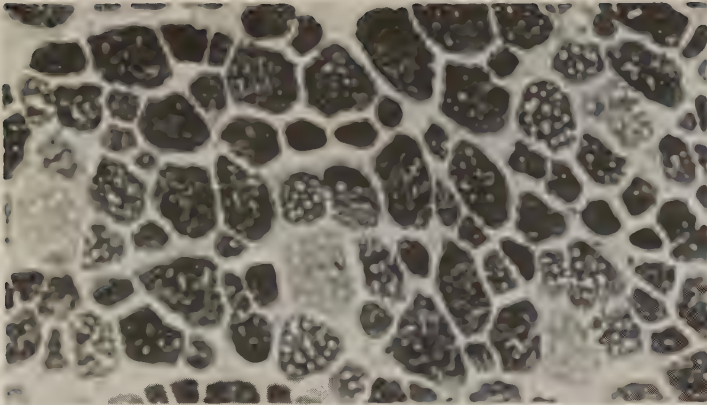


Abb. 8

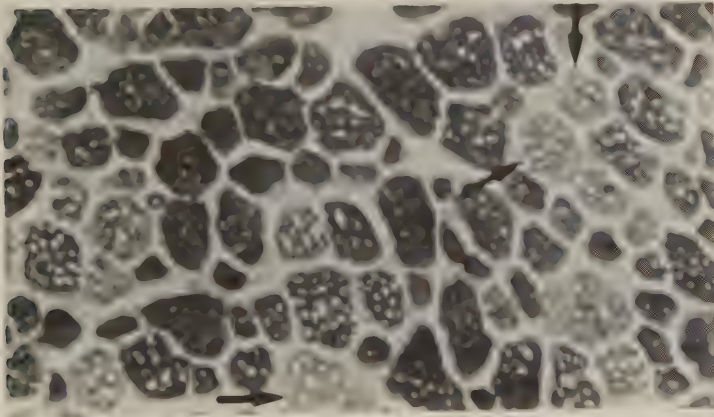


Abb. 9

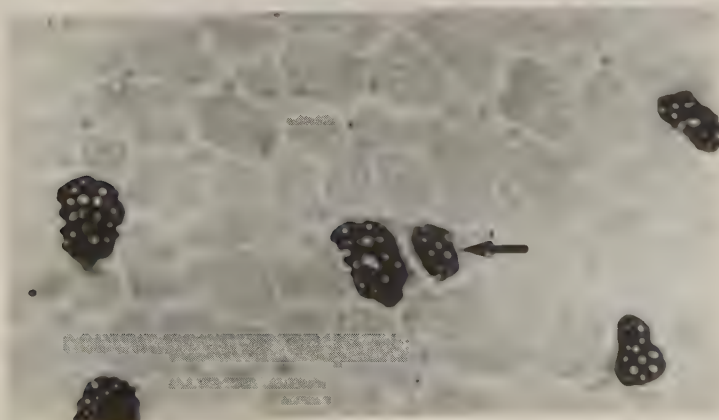


Abb. 10

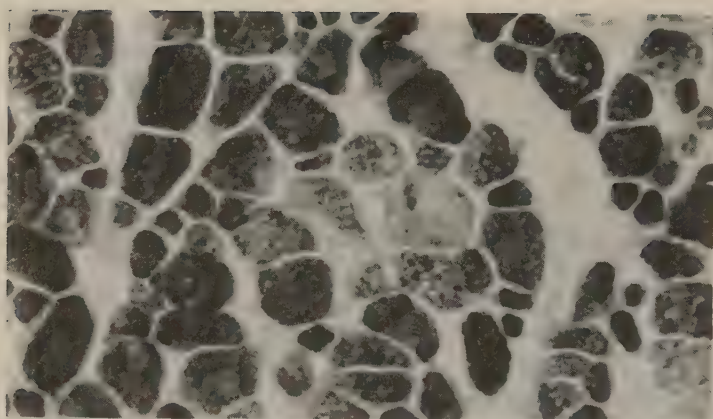


Abb. 11

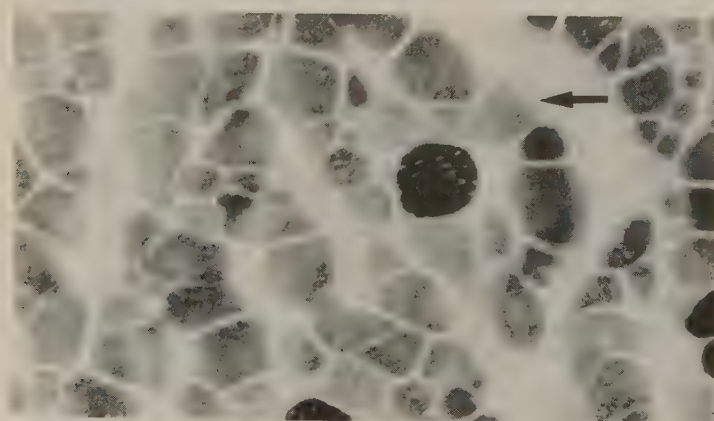


Abb. 12



Abb. 13

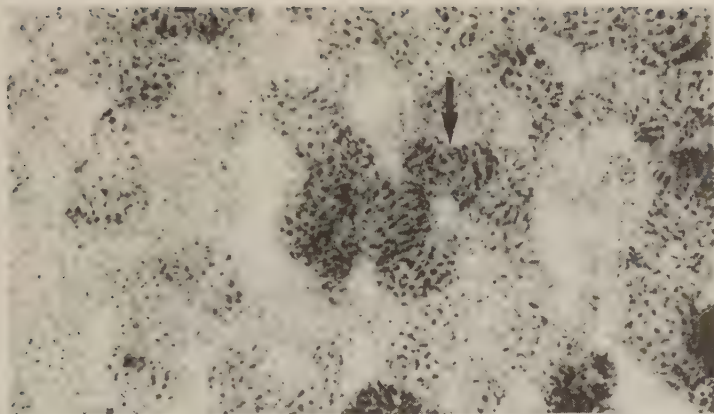


Abb. 14

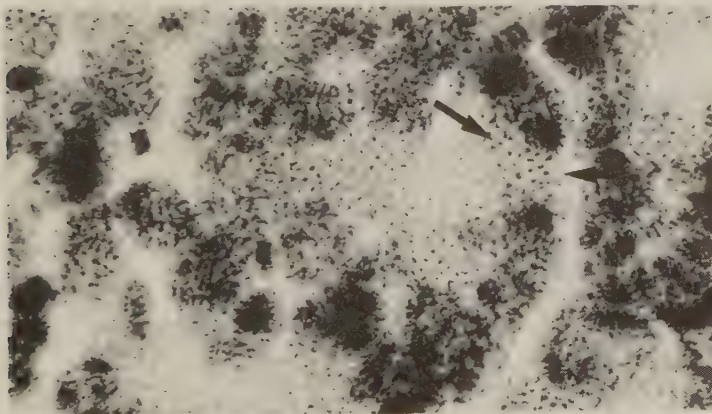


Abb. 15

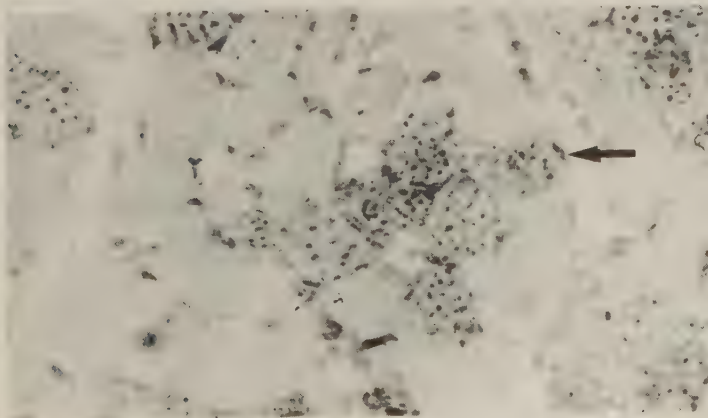


Abb. 16

Literaturverzeichnis

- ANDERSEN, L.D.; PARRISH, F.C. and D.G. TOPEL: Histochemical and palatability properties of *M. longissimus* from stress-susceptible porcine animals. *J. Anim. Sci.* 41, 1600-1610 (1975)
- ASHMORE, C.R. and L. DOERR: Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Exp. Neurol.* 31, 408-418 (1971)
- ASHMORE, C.R.; TOMPKINS, G. and L. DOERR: Postnatal development of muscle fiber types in domestic animals. *J. Anim. Sci.* 34, 37-41 (1972)
- ASHMORE, C.R., ADDIS, P. B. and L. DOERR: Development of muscle fibers in the fetal pig. *J. Anim. Sci.* 36, 1088-1093 (1973)
- BARNARD, R.J., EDGERTON, U. R., FURUKAWA, T. and J. B. Peter: Histochemical, biochemical and contractile properties of red, white and intermediate fibers. *Amer. J. Physiol.* 220, 410-414 (1971)
- BASS, A., BRDISZKA, D., EYER, P., HOFER, S. and D. PETTE: Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Europ. J. Biochem.* 10, 198-206 (1969)

- BECKETT, E.B. and G. H. BOURNE in: Bourne, The structure and function of muscle, 4, New York and London Academic Press 1973
- BEECHER, G.R., CASSENS, R. G., HOEKSTRA, W. G. and E. J. BRISKEY: Red and white fiber content and associated post-mortem properties of seven porcine muscles. J. food Sc. 30, 969-976 (1965)
- BERGMANN, V.: Elektronenmikroskopische Befunde an der Skelettmuskulatur von neugeborenen Ferkeln mit Grätschstellung. Arch. Exper. Vet. med. 30, 239-260 (1976)
- BROOKE, M. H. and K. K. KAISER: Some comments on the histochemical characterization of muscle adenosine triphosphatase. J. histochem. Cytochem. 17, 431-432 (1969)
- BROOKE, M. H. and K. K. KAISER: Muscle fiber types: How many and what kind? Arch. Neurol. 23, 369-379 (1970)
- BROOKE, M.H., WILLIAMSON, E. and K. K. KAISER: The behaviour of four fiber types in developing and reinnervated muscle. Arch. Neurol. 25, 360-366 (1971)

- BROOKE, M. H. in: Pearson and Mostofi, The striated muscle, Baltimore; the Williams and Wilkins Comp. 1973
- BULLARD, H. H.: Histological as related to physiological and chemical differences in certain muscles of the cat. Johns Hopkins Hospital Reports 18; 323-328 (1919)
- BUNDSCHU, H. D. und R. SUCHENWIRTH: Primäre und sekundäre Myopathien aus enzymhistologischer Sicht. Fortschr. Neurol. Psychiat. 41, 419-449 (1973)
- BURKE, R. E., LEVINE, D. N., ZAJAC, F. E., TSAIRIS, P. and W.K. ENGEL: Mammalian motor units: Physiological-histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius. Science 174, 709-712 (1971)
- CANCILLA, P. A. and M. A. VERITY in: Pearson and Mostofi, The striated muscle. Baltimore, the Williams and Wilkins Comp. 1973
- CASSENS, R. G., COOPER, C. C., MOODY, W. G. and E. J. BRISKEY: Histochemical differentiation of fiber types in developing porcine muscle. J. Anim. Morphol. Physiol. 15, 135-140 (1968)

- COOPER, C. C., CASSENS, R. G. and E. J. BRISKEY: Capillarity distribution and fiber characteristics in skeletal muscle of stress-susceptible animals. J. food sci. 34, 299-302 (1969)
- COOPER, C. C., CASSENS, R. G., KASTENSCHMIDT, L. L. and E. J. BRISKEY: Histochemical characterization of muscle differentiation. Develop. Biol. 23, 169-184 (1970)
- DAVIES, A. S. and H. M. GUNN: Histochemical fiber types in the mammalian diaphragm. J. Anat. 112, 41-60 (1972)
- DILDEY, D. D., ABERLE, E. D., FORREST, J. C. and M. D. JUDGE: Porcine muscularity and properties associated with pale, soft, exsudative muscle. J. Anim. Sci. 31, 681-685 (1970)
- DUBOWITZ, V. and A. G. E. PEARSE: A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle. Histochemie 2, 105-117 (1960)
- DUBOWITZ, V.: Enzyme histochemistry of skeletal muscle. I. Developing animal muscle, II. Developing human muscle. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 28, 516-524 (1965)

DUBOWITZ, V. and M. H. BROOKE in: Muscle Biopsy: A modern
Approach. London-Philadelphia-Toronto:
W.B. Saunders Comp. Ltd. 1973

EDGERTON, V. R. and D. R. SIMPSON: The intermediate muscle
fiber of rats and guinea pigs. J. Histochem.
Cytochem. 17, 828-838 (1969)

EDGERTON, V. R., BARNARD, R. J., PETER, J. B., SIMPSON, D. R.
and C. A. GILLESPIE: Response of muscle glycogen
and phosphorylase to electrical stimulation
in trained and non-trained guinea pig.
Exp. Neurol. 27, 46-56 (1970)

EDGERTON, V. R. and D. R. SIMPSON: Dynamic and metabolic
relationship in the rat extensor digitorum
longus muscle. Exp. Neurol. 30, 374-376 (1971)

ENGEL, W.K.: The essentiality of histo- and cytochemical
studies of skeletal muscle in the investigation
of neuromuscular disease. Neurology 12, 778-784
(1962)

ENGEL, W. K. and G. C. CUNNINGHAM: Rapid examination of
muscle tissue. An improved trichrome method
for fresh-frozen biopsy sections.
Neurology 13, 919-925 (1963)

- ENGEL, W. K.: Selective and nonselective susceptibility of muscle fiber types. A new approach to human neuromuscular diseases. Arch. Neurol. 22, 97-115 (1970)
- ERÄNKÖ, O and A. PALKAMA: Improved localization of phosphorylase by the use of polyvinylpyrrolidine and high substrate concentration. J. Histochem. Cytochem. 2, 585 (1961)
- GAUTHIER, G. F.: On the relationship of ultrastructural and cytochemical features to color in mammalian skeletal muscle. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 95, 462-482 (1969)
- GRÜTZNER, P.: Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskeln. Recueil Zoologique Suisse 1, 665-684 (1884)
- VAN DEN HENDE, C., MUYELLE, E. and W. OYAERT: Enzyme activities of liver, heart- and skeletal muscles of the pig. Zbl. Vet. Med. A 15, 135-142 (1968)
- VAN DEN HENDE, C., MUYELLE, E., OYAERT, W. and P. DE ROOSE: Changes in muscular characteristics in growing pigs. Histochemical and electron microscopic study. Zbl. Vet. Med. A 19, 102-110 (1972)

KARPATI, G. and W. K. ENGEL: Neuronal trophic function.

Arch. Neurol. 17, 542-545 (1967)

LORENZINI, S.: zit. nach Ciaccio, V.: La découverte des

muscles blancs et des muscles rouges chez le lapin, revendiqué en faveur de S. Lorenzini. Archives Italiennes de Biologie 30, 227-228 (1898)

KNOLL, P.: Über protoplasmaarme und protoplasmareiche

Muskulatur. Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften (Mathematisch Naturwissenschaftliche Classe Wien) 58, 633-700 (1891)

MILLER, L. R., GARWOOD, V. A. and M. D. JUDGE: Factors

affecting porcine muscle fiber type, diameter and number. J. Anim. Sci. 41, 66-77 (1975)

MOODY, W. G. and R. G. CASSENS: Histochemical differentiation of red and white muscle fibers.

J. Anim. Sci. 27, 961-968 (1968)

PEARSE, A. G. E.: Direct relationship of phosphorylase and mitochondrial α -glycerophosphate dehydrogenase activity in skeletal muscle.

Nature 121, 504 (1961)

PEARSE, A. G. E. in: Histochemistry, theoretical and applied 2,
Edinburgh and London: Churchill Livingstone
(1972)

PETER, J. B., BARNARD, R. J., EDGERTON, V. R., GILLESPIE, C.A.
and K. E. STEMPEL: Metabolic profiles of three
fiber types of skeletal muscle in guinea pigs
and rabbits. Biochemistry 11, 2627-2633 (1972)

RANVIER, M. L.: Propriétés et structures différentes des
muscles blancs chez les lapins et chez les
raies. Comptes Rendus Hebdomadaires des Sé-
ances de l'Académie des Sciences (Paris) 77,
1030-1034 (1873)

RANVIER, M. L.: zitiert nach Dubowitz V. and M. H. Brooke:
Muscle biopsy: a modern approach. W. B. Saun-
ders Comp. Ltd. London, Philadelphia, Toronto
1973

ROBBINS, N., KARPATI, G. and W. K. ENGEL: Histochemical
and contractile properties in the cross-
innervated guinea pig soleus muscle.
Arch. Neurol. 20, 318-329 (1969)

ROMANUL, F. C. A.: Enzymes in muscle. I Histochemical
studies of enzymes in individual muscle fibers.
Arch. Neurol. 11, 355-368 (1964)

RUTH, G. R. and J. F. VAN VLEET: Experimentally induced selenium - vitamin E deficiency in growing swine: selective destruction of type I skeletal muscle fibers. Am. J. Vet. Res. 25, 237-244 (1974)

SAWYER, D., SIE, H. and W. H. FISHMAN: A technique for preparing permanent histochemical preparations of liver phosphorylase. J. Histochem. Cytochem. 13, 605-607 (1965)

SEMENOFF, W. E.: Mikrochemische Bestimmung der Aktivität der Succino dehydrogenase in den Organen der Rana Temporaria. Zeitschr. Zellf. 22, 305-309 (1935)

STEIN, J. M. and H. A. PADYKULA: Histochemical classification of individual skeletal muscle fibers of the rat. Am. J. Anat. 110, 103-123 (1962)

SWATLAND, H. J.: Muscle growth in the fetal and neonatal pig. J. Anim. Sci. 37, 536-545 (1973)

SWATLAND, H. J. and R. G. CASSENS: Prenatal development, histochemistry and innervation of porcine muscle. J. Anim. Sci. 36, 343-354 (1973 a)

- SWATLAND, H. J. and R. G. CASSENS: Observations on the postmortem histochemistry of myofibers from stress susceptible pigs. J. Anim. Sci. 37, 885-891 (1973 b)
- SWATLAND, H. J.: Histochemical development of myofibers in neonatal piglets. Res. Vet. Sci. 18, 253-257 (1975)
- TAKEUCHI, T. and H. KURIAKI: Histochemical detection of phosphorylase in animal tissue. J. Histochem. Cytochem. 2, 153-160 (1955)
- THURLEY, D. C., GILBERT, F. R. and J. T. DONE: Congenital splayleg of piglets: myofibrillar hypoplasia. Vet. Rec. 80, 302-304 (1967)
- THURLEY, D. C. and J. T. DONE: The histology of myofibrillar hypoplasia of newborn pigs. Zbl. Vet. Med. A 16, 732-740 (1969)
- THURLEY, D. C.: Increase in diameter of muscle fibers in the foetal pig. British Veterinary Journal 128, 355-358 (1972)
- VERITY, M. A. and R. F. COLEMAN in: Pearson and Mostofi, The striated muscle. Baltimore: The Williams & Wilkins Comp. 1973

Herrn Professor Dr. J. von Sandersleben danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertations-themas und seine allzeit bereitwilligst gewährte Unterstützung.

Für wertvolle Hinweise und freundliche Unterstützung gilt Herrn Dr. B. Schlotke mein besonderer Dank.

Für technische Hilfeleistungen sei den Damen E. Kemper, I. Rothemund und C. Töpfer gedankt.

Diese Arbeit ist im Sonderforschungsbereich 147
(Jungtierkunde - München) entstanden.

Lebenslauf

Am 22. November 1948 wurde ich als Sohn des Verwaltungsangestellten Ernst Koch und seiner Ehefrau Hedwig, geborene Klingler, in Trossingen/Baden-Württemberg geboren.

Von 1956 bis 1960 besuchte ich in Trossingen die Volksschule und wechselte anschließend auf das Gymnasium Trossingen über, wo ich 1968 die Reifeprüfung ablegte.

Meinen Wehrdienst leistete ich von 1968 bis 1969 ab.

Im Wintersemester 1969/70 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Universität München. Im Herbst 1974 beendete ich die 3. Tierärztliche Prüfung und erhielt im Oktober 1974 die Bestallung zum Tierarzt.

Vom 1. November 1974 bis zum 31. März 1975 war ich als wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Tierpathologie (Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie) des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München tätig. Seit 1. April 1975 habe ich die Stelle eines Verwalters der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am obigen Institut inne.

Mit der vorliegenden Arbeit habe ich im November 1974 begonnen.

